

- Oinuma T. 1953. Jap. J. Genet., 28: 28—34.
 Ossent H. P. 1930. Züchter, 2: 221—227.
 Peterson R. F. 1934. Sci. Agric., 14: 651—668.
 Prakken R., A. Müntzing. 1942. Hereditas, 27: 441—452.
 Rees H. 1955a. Heredity, 9: 93—116.
 Rees H. 1955b. Proc. Roy. Soc., ser. B., 144: 150—159.
 Rees H. 1961. Evolution, 15: 145—152.
 Rees H., J. B. Thompson. 1956. Heredity, 10: 409—424.
 Rimpau. 1877. Landw. Jb., 6.
 Rümker K. 1911. IV Conf. Intern. Genetique: 332—335.
 Rümker K. 1912. Zs. Landw.: 263—265.
 Rümker K. 1913. Beitr. Pflanzenz., 3.
 Stegelmach L., H. Piper. 1922. Fühlings landw. Zbg., 71: 201—222.
 Stütz H. C. 1962. J. Hered., 53, 2: 67—71.
 Sun S., H. Rees. 1964. Heredity, 19, 3: 357—367.
 Sybenga J. 1958. Zs. Vererb., 59: 338—354.
 Sybenga J. 1965. Genetica, 36, 3: 243—252.
 Sybenga J. 1968. Heredity, 23, 1: 73—80.
 Sybenga J., R. Prakken. 1962. Genetica, 33, 2: 95—105.
 Thompson W. F. 1922. (Цит. по Jain, 1960).
 Treboux O. 1925. Zs. Pflanzenz., 10, 3: 288—296.
 Tschermak E. 1905. Zs. Landw. Versuchsw. Oesterr., 1: 1—45.
 Ulrich. 1902. (Цит. по Краснопку, 1936).
 Watkins R., W. J. White. 1964. Canad. J. Genet. Cytol., 6, 4: 403—410.
 Weissensiek S. J. 1948. (Цит. по Jain, 1960).

ДЕЙСТВИЕ КОЛХИЦИНА НА МИТОЗ В КОРЕШКАХ ДИПЛОИДНЫХ И ПОЛИПЛОИДНЫХ ФОРМ РЖИ И ПШЕНИЦЫ

Т. С. Фадеева, Г. А. Кириллова, Н. Ф. Зосина,
Сити Харти Аминах

Изучение действия физических и химических агентов на митотическую активность представляет собой одну из кардинальных проблем биологии. На основе митоза идет реализация генетических потенций организмов в онтогенезе. Сам митоз разрешает прохождение онтогенеза, а его характер и особенности, т. е. скорость, локализация и т. д., лежат в основе многих фенотипических особенностей растений.

Колхицин относится к агентам, действие которых на клеточное деление в достаточной мере изучено. Это дает возможность исследовать специфику его действия на разные генетические системы. Крайне интересно сравнительное изучение действия колхицина на ткани разного уровня полиплоидии и на ткани одинаковой пloidности, но разного происхождения: на естественные полиплоиды, возникшие давно и прошедшие длительную эволюцию, и на экспериментально полученные полиплоиды, не имеющие еще истории, недостаточно установившиеся в отношении многих признаков. Такое сравнение, с одной стороны, может быть интересно с методической точки зрения, с точки зрения подбора доз колхицина для получения полиплоидов в экспериментальной работе. С другой стороны, исследование этого вопроса интересно с точки зрения изучения особенностей митоза, приобретаемых на основе генетического механизма умножения генов и геномов, приобретения так называемой «полиплоидной защиты» и выяснения возможностей стабилизации полиплоидов в онтогенезе.

В работе исследовалось влияние колхицина на митотический индекс и длительность фаз митоза у диплоидной и тетраплоидной ржи, т. е. недавно возникшей формы, а также у сортов пшеницы, относя-

щихся к ди-, тетра- и гексаплоидным видам, имеющим уже длительную историю.

Действие колхицина на клетки растений и животных изложено во многих работах и монографиях (Eigsti a. Dustin, 1955; Levan, 1936, 1938, и др.). По сравнительной оценке реакции клеток разного уровня плоидности работы немногочисленны (Тицу, 1965). А. Леван (Levan, 1936, 1938) наблюдал больший процент измененных клеток в более старой части корешка и сохранение диплоидных клеток вблизи верхушки. На основании своих наблюдений он делает вывод о том, что темп деления диплоидных клеток выше, чем полиплоидных. Диплоидные клетки быстрее вступают в деление, чем полиплоидные, а высокополиплоидные клетки находятся в состоянии постоянной профазы. Д. Дэвидсоном (Davidson, 1965) было отмечено, что ткани одних и тех же органов в разные периоды могут иметь разную чувствительность к колхицину. Так, в определенный период развития меристема боковых корешков имеет более высокую чувствительность к колхицину, чем меристема главного корня.

Для характеристики эффекта действия физических и химических агентов на клетку широко используют митотический индекс (МИ) — долю клеток, находящихся в данный момент в состоянии деления. Этот показатель характеризует две величины: скорость прохождения митоза и число клеток, вступивших в деление. Высокий МИ не является прямой характеристикой митотической активности. Для установления митотической активности необходимо определение скорости митотического деления (Уткин, 1953). Одним из методов определения длительности митоза является колхициновый метод. Продолжительность митоза можно рассчитывать по формуле, предложенной Дастином (Dustin, 1959):

$$m = \frac{it}{I_{ts}},$$

где m — продолжительность митоза; i — МИ в начале опыта; I_{ts} — МИ после t часов действия колхицина; t — время действия колхицина.

Длительность всего митотического цикла определяется суммой интерфазы (T) и митоза (m). Продолжительность интерфазы можно вычислить следующим образом:

$$T = \frac{Nm}{i},$$

где N — частота встречаемости интерфазы; i — частота встречаемости митоза (МИ).

На нашей кафедре аспирантом профессора М. Е. Лобашева Х. Тицу была выполнена работа по оценке длительности митоза у форм разной степени плоидности (Тицу, 1965). Им были исследованы экспериментально полученные формы гаплоидных и диплоидных томатов и диплоидной и тетраплоидной ржи. Проведенная параллельно с помощью двух методов (колхициновой и радиоавтографии) оценка продолжительности митотического цикла показала, что во всех случаях наиболее короткий клеточный цикл имеют диплоидные растения; гаплоидные и тетраплоидные клетки имеют более длительный митотический цикл.

Положение о меньшей скорости деления у экспериментально полученных полиплоидов неоднократно высказывалось в литературе и подтверждалось косвенными фактами (Lesly, 1932; Eigsty, 1937; Kostoff, 1940). М. С. Наващин (1951) продемонстрировал это положение при сравнительном изучении клеток эпидермальных волосков диплоидного

и тетраплоидного кок-сагыза; он связывает увеличение размера клеток у полиплоидов с уменьшением темпа клеточных делений.

С другой стороны, многие авторы указывали на разную реакцию диплоидных и полиплоидных клеток на действие облучения (Conger a. Jonston, 1956; Мансурова, Сахаров, Хвостова, 1957; Бреславец, 1960; Изможеров и Изможерова, 1965; Зосимович, Сафин, Демченко, 1966). Параллельно эти авторы обсуждают вопрос о «полиплоидной защите», одним из механизмов которой является большая скорость восстановления хромосом после повреждения у полиплоидов по сравнению с диплоидами. Разная реакция диплоидов и полиплоидов на физические факторы дает возможность предполагать разную их реакцию на химические факторы, к числу которых относится и колхицин. Этому вопросу и посвящена наша работа.

Материал и методика. В качестве материала в работе были использованы семена ржи и пшеницы разной степени плоидности.

1. Рожь *Secale cereale* L.: диплоидный сорт Вятка 2 ($2n=14$) и тетраплоидная популяция № 1, созданная на кафедре генетики и селекции ЛГУ В. С. Федоровым. Семена для работы получены от В. С. Федорова.

2. Пшеница трех видов — сортов с разной степенью плоидности: *Triticum monoccum* L. ($2n=14$), *Tr. durum* L. var. *melanopus* ($2n=28$), *Tr. aestivum* L. var. *millurum* ($2n=42$). Семена пшеницы были получены в Отделе зерновых Всесоюзного института растениеводства. Используемые виды пшеницы представляют естественный полиплоидный ряд.

Проращивание семян проводили в чашках Петри на фильтровальной бумаге, смоченной водопроводной водой, при температуре $17\pm 1^\circ$ для ржи и $20-23^\circ$ для пшеницы. После появления корешков длиной 5—6 мм часть корешков фиксировали. Остальные проростки делили на несколько групп соответственно вариантам опыта, т. е. разным концентрациям колхицина. После предварительных экспериментов были выбраны варианты концентрации колхицина и длительности обработки.

Для ржи концентрация водного раствора колхицина — 0,01; 0,03; 0,1%, для пшеницы концентрация — 0,1; 0,01%. Корешки проростков фиксировали через 1, 4, 12, 36, 72 ч после воздействия колхицина для ржи и через 1, 2, 4, 8, 12, 24, 28, 32, 48, 72 ч для пшеницы. Работа выполнялась на давленных препаратах с окраской ацетолакмондом.

На каждый вариант опыта готовили 8—10 препаратов, т. е. подсчет велся по 8—10 корешкам. Всего просмотрено 384 препарата для ржи и 768 для пшеницы. На каждом препарате учитывалось 10—25 полей зрения (≈ 1000 клеток), где подсчитывали общее число клеток и число клеток, находящихся в разных фазах митоза. Для всех вариантов определяли МИ, длительность фаз митоза, а также длительность всего клеточного цикла.

Митотический индекс в контрольном варианте

Результаты учета числа делящихся клеток в контрольном варианте (без действия колхицина) у ржи дали сравнительно невысокое значение этой величины. В условиях данного опыта МИ держится на уровне 4—5% (табл. 1). Видимо, низкое значение МИ связано с тем, что температура при обработке колхицином была низкая, всего лишь 17° . Через 5 суток было отмечено уменьшение МИ, что, очевидно, объясняется неблагоприятными условиями для роста достаточно крупных проростков в чашках Петри.

У тетраплоидной ржи МИ был несколько выше во всех вариантах. Эта разница очень незначительна, но устойчива для всех сроков фиксации. У пшеницы всех видов МИ также составлял очень незначительную величину, порядка 2—4%, что, как и для ржи, можно объяснить условиями опыта. Разница в значении МИ для разных видов была очень незначительна и недостоверна. Из фаз митоза наиболее часто встречались профазы.

Таблица 3

Величина МИ и встречаемость фаз митоза в необработанных колхциновой корешках ржи (в разные сроки фиксации)

Время от начала опыта, ч	Учетная клетка	Встречаемость фаз митоза, %				МИ, %
		интерфаза	профаза	метафаза	ана-телофаза	
Диплоид						
0	8190	94,89	2,21	1,91 ± 0,11	1,89	5,1 ± 0,23
1	8030	95,09	2,32	1,15 ± 0,12	1,53	5,3 ± 0,26
4	7910	95,05	2,22	1,02 ± 0,11	1,79	4,9 ± 0,24
12	7840	95,87	2,13	0,85 ± 0,10	1,49	4,1 ± 0,22
36	8000	95,28	2,13	1,31 ± 0,12	1,58	4,7 ± 0,23
72	8320	95,28	1,74	0,83 ± 0,10	1,22	3,7 ± 0,21
Тетраплоид						
0	8050	95,18	2,28	1,12 ± 0,12	1,42	4,8 ± 0,22
1	7930	94,37	2,74	1,28 ± 0,13	1,59	5,5 ± 0,25
4	7830	94,92	2,43	1,13 ± 0,12	1,52	5,3 ± 0,25
12	7960	94,55	2,49	1,25 ± 0,12	1,71	5,5 ± 0,26
36	8040	94,89	2,21	1,53 ± 0,13	1,55	5,1 ± 0,25
72	7890	95,74	1,45	0,78 ± 0,10	1,02	3,2 ± 0,20

Митотический индекс после действия колхцицина разной концентрации и экспозиции

Уже при первой экспозиции, т. е. через 1 ч после начала обработки колхцином, даже очень слабая его концентрация (0,01%) вызвала в меристеме корешков ржи и пшеницы остановку митозов на стадии метафазы. Это выражалось в относительном увеличении числа метафаз, однако МИ еще не отличался от контроля. В это время метафазные пластинки имели нормальный вид, признаки А-метафаз не наблюдались. У ржи все же наметились различия между диплоидами и тетраплоидами.

Заметно быстрее шло накопление метафаз у диплоидной ржи. По числу метафаз через 4, 12, 36 ч после начала обработки диплоидная и тетраплоидная рожь достоверно различаются между собой (табл. 3). При концентрации 0,01% часть клеток завершает митоз полностью, встречаются анафазные клетки. При 0,03% у диплоидной ржи число метафазных пластинок растет быстрее. Различия между диплоидной и тетраплоидной рожью по числу метафаз остается достоверным. Это заставляет предполагать, что в корешках тетраплоидной ржи клетки вступают в деление реже, т. е. имеют большую длительность митотического цикла. Интересно, что концентрация 0,03% лишь через 4 ч вызывает накопление клеток с анафазами, а при 0,1% уже через час анафазы встречаются лишь как единичные.

Величина МИ при обработке колхцином значительно меняется. Через час длительность его несколько падает по сравнению с контролем. Падение незначительно, но повторяется для всех концентраций и, возможно, является результатом первой ответной реакции клеток на

Таблица 2

Величина МИ и встречаемость фаз митоза у диплоидной и тетраплоидной ржи после обработки колхицином

Время от начала опыта, ч	Концен- трация Со, %	Диплоид						Тетраплоид						t _{diff} МИ к кон- тролю
		Учено клеток	Встречаемость фаз митоза, %				МИ, %	Учено клеток	Встречаемость фаз митоза, %				МИ, %	
			интерфаза	профаза	метафаза	ана-тело- фаза			интерфаза	профаза	метафаза	ана-тело- фаза		
1	0,01	8240	95,20	2,02	1,71 ± 0,14	1,07	4,8 ± 0,23	8190	94,90	2,21	1,69 ± 0,14	1,20	5,1 ± 0,24	0,9
4	0,01	8020	91,18	2,25	5,75 ± 0,26	0,82	8,8 ± 0,32	8210	92,29	2,24	4,86 ± 0,24	0,61	7,7 ± 0,29	2,56
12	0,01	7690	88,57	2,09	9,01 ± 0,33	0,33	11,4 ± 0,36	7880	90,66	1,88	7,04 ± 0,29	0,42	9,3 ± 0,33	4,3
36	0,01	8300	90,55	1,82	7,49 ± 0,29	0,14	9,4 ± 0,32	8340	92,55	2,35	4,99 ± 0,24	0,11	7,5 ± 0,33	4,14
72	0,01	6510	97,10	0,23	2,67 ± 0,20	0	2,9 ± 0,24	7060	97,37	0,15	2,48 ± 0,18	0	2,6 ± 0,19	3,07
1	0,03	8130	95,26	2,18	2,34 ± 0,17	0,22	4,7 ± 0,23	8150	95,29	2,22	2,18 ± 0,16	0,31	4,7 ± 0,23	0
4	0,03	8390	90,47	2,28	7,32 ± 0,28	0,33	9,5 ± 0,32	7990	92,66	1,86	5,47 ± 0,25	0,01	7,3 ± 0,29	5,12
12	0,03	8220	87,08	2,03	10,89 ± 0,33	0	12,9 ± 0,37	8020	88,74	2,13	9,13 ± 0,32	0	11,2 ± 0,35	3,35
36	0,03	8070	90,07	1,69	8,24 ± 0,31	0	9,9 ± 0,36	7800	92,07	1,99	5,94 ± 0,27	0	7,9 ± 0,31	4,66
72	0,03	7010	97,99	0,36	1,75 ± 0,16	0	2,1 ± 0,17	6340	97,58	0,44	1,98 ± 0,17	0	2,2 ± 0,19	0,4
1	0,1	8160	95,71	1,78	2,49 ± 0,17	0,02	4,3 ± 0,24	8030	95,83	1,86	2,23 ± 0,16	0,08	4,2 ± 0,22	0,31
4	0,1	8040	90,12	2,31	7,57 ± 0,29	0	9,9 ± 0,33	7900	92,15	1,91	5,94 ± 0,27	0	7,8 ± 0,30	4,04
12	0,1	8320	82,85	2,43	14,72 ± 0,39	0	17,1 ± 0,41	7860	86,14	2,22	11,16 ± 0,36	0	13,8 ± 0,39	6,28
36	0,1	8110	95,59	1,55	6,86 ± 0,28	0	8,4 ± 0,31	8070	91,89	1,85	6,26 ± 0,27	0	8,1 ± 0,30	0,69
72	0,1	6890	98,91	0,17	0,92 ± 0,11	0	1,1 ± 0,13	6010	98,57	0,24	1,19 ± 0,14	0	1,4 ± 0,15	1,52

Таблица 3

Величина МИ у пшениц разных видов после обработки колхицином

Время от начала опыта, г	Концентрация Со, %	Tr. molossomit		Tr. durum		Tr. aestivum		t _{diff}		
		Учтено клеток	МИ, %	Учтено клеток	МИ, %	Учтено клеток	МИ, %	m/d	m/aest	d/aest
0	0,00	5757	3,4 ± 0,25	4905	3,6 ± 0,27	3828	3,4 ± 0,30	0,55	0	0,49
1	0,01	5805	3,3 ± 0,23	4706	3,0 ± 0,25	3804	3,4 ± 0,29	0,88	0,27	1,04
2	0,01	6100	3,2 ± 0,22	4360	3,5 ± 0,28	3918	3,5 ± 0,29	0,84	0,82	0
4	0,01	5556	5,3 ± 0,3	4905	4,3 ± 0,46	3660	3,7 ± 0,31	1,82	3,71	1,08
7	0,01	6045	8,5 ± 0,36	4970	8,1 ± 0,39	4100	7,6 ± 0,38	0,75	1,72	0,92
12	0,01	5500	15,0 ± 0,48	4608	13,5 ± 0,56	3680	13,1 ± 0,55	2,16	2,6	0,53
24	0,01	6021	5,8 ± 0,3	5004	5,9 ± 0,30	3907	5,2 ± 0,36	1,24	1,28	1,43
28	0,01	5805	5,3 ± 0,29	5907	4,8 ± 0,28	3805	4,6 ± 0,4	2,24	1,56	0,45
32	0,01	5407	4,3 ± 0,28	4770	3,7 ± 0,27	3708	4,2 ± 0,34	1,34	0,46	0,94
48	0,01	6025	1,5 ± 0,16	4305	1,7 ± 0,18	4018	2,0 ± 0,22	0,83	1,84	1,06
1	0,1	6100	3,3 ± 0,23	4470	3,1 ± 0,26	4008	3,3 ± 0,28	0,58	0	0,52
2	0,1	6208	3,2 ± 0,22	4409	2,9 ± 0,25	4107	3,1 ± 0,27	0,9	0,29	0,54
4	0,1	6879	5,6 ± 0,28	4907	5,3 ± 0,32	4107	5,2 ± 0,35	0,71	0,89	0,21
7	0,1	6063	9,8 ± 0,38	4405	9,5 ± 0,45	3832	9,3 ± 0,47	0,51	0,83	0,31
12	0,1	5300	17,1 ± 0,52	4900	15,9 ± 0,52	4770	15,2 ± 0,59	1,63	2,42	0,89
24	0,1	5802	5,6 ± 0,30	4390	5,5 ± 0,34	3804	4,9 ± 0,36	0,22	1,49	1,21
28	0,1	6208	4,7 ± 0,27	5074	4,4 ± 0,29	3801	4,2 ± 0,33	0,75	1,17	0,46
32	0,1	3804	3,9 ± 0,31	3706	3,9 ± 0,26	4001	3,8 ± 0,30	0	0,28	0,25
48	0,1	6506	2,1 ± 0,18	4770	2,2 ± 0,21	4120	1,8 ± 0,21	0,39	1,08	1,34

колхицин. При последующих фиксациях МИ возрастает в результате накопления метафаз за счет остановки митоза на этой стадии. Наибольший интерес представляет тот факт, что МИ у тетраплоидной ржи достоверно ниже, чем у диплоидной через 4, 12, 36 ч после начала обработки. Это дает основание предполагать, что тетраплоиды имеют большую длительность цикла деления, реже вступают в митоз. После длительного воздействия колхицином МИ падает по сравнению с ранними фиксациями и с контролем, что, видимо, связано с повреждающим действием колхицина, когда новые клетки не вступают в деление, а клетки, ранее находившиеся в стадии κ -метафазы, постепенно переходят в κ -телофазу и образуют интерфазные ядра.

У пшеницы число метафаз после воздействия колхицина быстрее растет у диплоидного вида. Уже через час после начала обработки число метафаз возрастает по сравнению с контролем (табл. 3). У тетраплоидных и гексаплоидных пшениц увеличение числа метафаз начинается несколько позднее. Максимум у всех видов отмечен через 12 ч после начала обработки, причем наибольшее значение этого показателя наблюдается у диплоидного вида при обеих взятых концентрациях. Митотический индекс у всех взятых в опыт видов после обработки колхицином очень незначительно уменьшается, а затем возрастает, достигая максимума через 12 ч, после чего начинает падать. Различия между видами по этому показателю в контрольном варианте недостоверно.

Таким образом, анализ данных по МИ у форм разного уровня полиплоидии дает основание говорить о несколько разной реакции на действие колхицина диплоидов и полиплоидов разного происхождения. В контрольных вариантах (без колхицина) МИ несколько выше у экспериментального полиплоида ржи. Однако после действия колхицина МИ заметно ниже у того же тетраплоида ржи, несколько меньше различия между естественными полиплоидами пшениц, но они также установлены при экспозиции 4 ч и 12 ч. У пшениц при слабой концентрации наблюдаются заметные различия между 2л и 6л и менее — между 2л и 4л, разницы между 4л и 6л не удалось уловить.

Продолжительность митоза и интерфазы

Особенности реакции диплоидов и полиплоидов на колхицин дали нам основание предполагать разную скорость клеточных делений у диплоидов и полиплоидов. При используемой нами методике учета мы могли провести определение продолжительности митоза и всего клеточного цикла у взятых в опыт форм (табл. 4). У диплоидной ржи митоз завершается в среднем заметно быстрее — за 2 ч 10 мин, чем у тетраплоидной ржи — 2 ч 38 мин, а весь клеточный цикл клеток меристемы корня у диплоидной — 42 ч 20 мин и у тетраплоидной — 54 ч 57 мин, т. е. длительность митоза и клеточного цикла у тетраплоида несколько больше. Это, очевидно, объясняется условиями опыта: проращивание проводилось в зимнее время и при сравнительно низких температурах. Данное предположение подтверждается сопоставлением наших результатов с данными, полученными аспирантом нашей кафедры Х. Тицу (1965). Тицу проводил опыт в весенний период, проращивание семян вел при более высокой температуре; соответственно и скорость клеточных делений в его опыте показана более высокая (табл. 4). Вместе с этим обращает на себя внимание сходный характер различий между диплоидными и тетраплоидными формами.

Для пшениц длительность митоза и всего клеточного цикла заметно больше у тетраплоидов и гексаплоидов, чем у диплоидов. Митоз

у диплоидной пшеницы в среднем проходил за 2 ч 34 мин, тогда как у тетраплоидной и гексаплоидной соответственно за 3 ч 21 мин и 3 ч 40 мин.

Обращают на себя внимание заметные различия между формами 2n и 4n и малые различия между формами 4n и 6n. Изучение причин этих различий представило бы большой интерес для генетики, для сравнительного изучения генетических и физиологических особенностей форм разного уровня полиплоидии. В настоящей работе мы можем только высказать предположение о том, что наблюдаемый факт может быть результатом двух различных причин.

Таблица 1

Продолжительность митоза и митотического цикла у растений различной плоидности

Объект	Плоидность	Митоз		Клеточный цикл	
		мин	t _{diff}	мин	t _{diff}
Рожь	2n	130 ± 9,6	1,6	2540 ± 197	1,6
	4n	158 ± 14,2		3297 ± 439	
Пшеница	2n	154 ± 19,2	1,17	4070 ± 820,3	
	4n	201 ± 36,0		5585 ± 1386,5	
	6n	220 ± 19,7	2,4	5830 ± 995,2	
	2n	154 ± 19,2		4070 ± 820,3	
Томаты (данные Тицу)	n	163 ± 8,4	3,93	1761 ± 63,9	8,0
	2n	127 ± 4,8		1146 ± 42,2	
Рожь (данные Тицу)	2n	90 ± 2,6	4,16	724 ± 25,4	8,8
	4n	145 ± 12,9		1102 ± 34,1	

Возможно, что наибольшее значение для скорости клеточных делений имеет изменение объема ядра, связанное с изменением числа хромосом вдвое — от 2x до 4x. Однако при рассмотрении данных по пшеницам нельзя исключить специфические особенности геномов, входящих в состав тетраплоидных и гексаплоидных пшениц. Не исключено, что геном В, общий у *T. durum* и *T. aestivum*, в первую очередь определяет скорость клеточного цикла и одинаково «тормозит» его у пшениц 4n и 6n по сравнению с пшеницами 2n. При рассмотрении этого вопроса не следует упускать из виду и то, что формы *T. durum* и *T. aestivum*, изучаемые нами, окультурены в большей степени, чем диплоидные.

Изучение действия колхицина представляет определенный интерес с двух точек зрения. С одной стороны, интересна практическая сторона использования колхицина, разработка методов получения полиплоидов, определение наиболее оптимальной концентрации и экспозиция. С другой стороны, интересно сопоставить реакцию диплоидов и полиплоидов на действие этого агента, определить, существует ли «полиплоидная специфика» и как она проявляется, если таковая есть, у вновь созданных полиплоидов и у полиплоидов, прошедших длительную эволюцию, в ходе которой геномы в значительной степени изменились. Для выяснения этих вопросов и был взят материал, отличающийся по числу хромосом и по геномному составу.

В работе было отмечено, что даже низкие концентрации колхицина вызывают образование полиплоидных клеток. Уже в первый час после начала обработки колхицином наблюдается увеличение митотического индекса за счет увеличения числа метафаз. Некоторое снижение числа профаз в первый час после начала обработки, видимо,

объясняется тем, что колхицин несколько меняет весь метаболизм клетки, оказывает отравляющее действие. Затем клетки вступают в митоз почти с постоянной скоростью.

Через 12 ч во всех вариантах опыта наблюдалось самое большое значение МИ и наибольшее число метафаз, после чего отмечался постепенный их спад. Уменьшение МИ связано с уменьшением числа метафаз, что в свою очередь вызвано тем, что в митоз вступает все меньше профаз из-за отравляющего действия колхицина и в результате ухудшения условий в чашках Петри, а часть метафаз дает реституционные ядра. Следовательно, для получения достаточного числа полиплоидных клеток длительность обработки не должна превышать 12 ч.

По данным Ван Гофа и Спароу (Van't Hof, Sparrow, 1963), между объемом интерфазных ядер, количеством ДНК и продолжительностью митотического цикла существует прямая зависимость. Это положение, казалось бы, справедливо и для исследованных нами форм. Однако известны особенности скорости клеточных делений у гаплоидных клеток, в которых Х. Тицу (см. табл. 4), несмотря на меньшее число хромосом, наблюдал удлинение всех фаз митоза и всего клеточного цикла (Тицу, 1965). По всей вероятности, у цветковых растений, где спорофит является диплоидным, гаплоидное состояние может рассматриваться как патологическое, и причину нарушения следует искать в нарушении ядерно-цитоплазматических отношений. Однако наблюдения, полученные нами на пшенице, несколько усложняют эту картину.

У всех взятых в опыт диплоидов наблюдалось более резкое возрастание МИ и числа метафаз, что может свидетельствовать о более сильной реакции диплоидных клеток на колхицин. Особенно резко это явление выражено у ржи, где полиплоидная форма имеет недавнее происхождение. Эта закономерность для пшеницы выявляется меньше.

Возможно, такое различие по реакции на колхицин между полиплоидами искусственными и естественными должно быть связано с длительным отбором, с изменением геномов, что привело к появлению сходной реакции на внешние воздействия.

ВЫВОДЫ

1. При проращивании в чашках Петри семян ржи и пшеницы разного уровня полиплоидии на 4—5-е сутки наблюдается падение МИ в меристеме кончиков корешков, что связано с изменением условий среды. У ржи тетраплоидные проростки имеют более высокий МИ в начальных экспозициях и более резкое его падение через 72 ч. У пшеницы резкого различия между исследованными формами не наблюдается.

2. При действии растворов колхицина концентрации 0,01—0,03% уже через 1 ч экспозиции наблюдается появление *к*-метафаз у всех взятых в опыт форм ржи и пшеницы.

3. Накопление *к*-метафаз и увеличение МИ происходит более интенсивно у диплоидных форм ржи и пшеницы, чем у полиплоидных. Различие по этому показателю между тетраплоидной и гексаплоидной пшеницами оказывается меньше, чем между тетраплоидом и диплоидом, с одной стороны, и гексаплоидом и диплоидом — с другой.

4. При сопоставлении длительности клеточных циклов наблюдается тенденция к увеличению длительности митоза, интерфазы и всего цикла вместе с увеличением уровня полиплоидии у исследованных форм ржи и пшеницы.

Summary

The comparative study has been made of the reaction of diploid and polyploid forms on colchicine. Diploid and artificially induced tetraploid forms of rye as well as different species of wheat — the natural polyploid row ($2n = 14$, $2n = 28$, $2n = 42$) — have been studied. It has been found that artificially obtained polyploid forms demonstrate more significant reaction on colchicine, and thus more significant "polyploid" specificity than the species of the natural polyploid row. It is possible that the difference is due to the long-time action of natural selection for the species of natural polyploid row and due to some changes in their genomes which resulted in uniform reaction of the species on changes in environment.

ЛИТЕРАТУРА

- Бреславец Л. П. 1960. В кн.: Физико-химические и структурные основы биологических явлений. М., Изд. АН СССР.
- Зосимович В. П., М. К. Сафин, В. Е. Демченко. 1966. Тр. МОИП, 23: 306—310.
- Изможеров Н. А., Е. Л. Изможорова. 1965. Тр. совещ. по полиплоидии, 14—18 января 1963 г. М.—Л., «Наука»: 178—181.
- Мансурова В. В., В. В. Сахаров, В. В. Хвостова. 1957. Делег. съезд Всесоюз. бот. о-ва. Тез. докл., 1: 19—21.
- Навашин М. С. 1951. Тр. Бот. ин-та АН СССР, сер. VII, 2. М.—Л., Изд. АН СССР: 268—293.
- Сахаров В. В., В. В. Мансурова, Р. И. Платонова, В. К. Щербаков. 1960. Цитологические доказательства физиологической защищенности аутотетраплоидов гречихи (*Fagopyron esculentum* Moench) от действия ионизирующей радиации. М., Изд. АН СССР.
- Тицу Х. 1965. Автореф. канд. дисс. Изд. ЛГУ.
- Уткин И. А. 1953. Бюлл. эксперим. биол. и мед., 36: 56—62.
- Conger A., A. Johnston. 1956. Nature, 178, 4527: 271.
- Davidson D. 1965. Ann. Bot., 114: 253.
- Dustin P. 1959. Kinetics of cellular proliferation. Ed. F. Stohlman. N. Y.: 50.
- Vant Hof, H. Sparrow. 1963. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 49: 897—901.
- Eigsti O. 1937. Genetics, 32: 85.
- Eigsti O., P. Dustin. 1955. Colchicine in agriculture, medicine, biology and chemistry. Yowa State College Press.
- Kostoff D. 1940. Current Science, 9: 277—278.
- Lesly J. 1932. Genetics, 13: 63.
- Levan A. 1936. Hereditas, 22: 278—280.
- Levan A. 1938. Hereditas, 24: 471—486.

О ПРИРОДЕ СТРЕПТОМИЦИНУСТОЙЧИВОСТИ У ХЛОРЕЛЛЫ

В. В. Тугаринов, Ф. Н. Тхруни, К. В. Квитко

У одноклеточных зеленых водорослей (хламидомонада, хлорелла) удалось выделить два аналогичных типа мутантов, устойчивых к 100 ед/мл и 500 ед/мл стрептомицина (*sr*-100, *sr*-500) (Sager, 1954; Тугаринов, 1965; Квитко, Симаров, 1966). Генетический анализ показал, что эти два типа мутантов у хламидомонады имеют различную природу. Первый тип мутаций (мутации *sr*-100), наследующихся по менделеевской схеме, являются преадаптивными, т. е. для их возникновения не требуется контакта с антибиотиком. Мутации второго типа (*sr*-500), обычно передающиеся при половом размножении всем продуктам мейоза от типа спаривания (+), возникают при непосредственном контакте с антибиотиком. Это характеризует стрептомицин как мутаген для факторов внехромосомной природы (Sager, 1954, 1962; Sager, Tsubo, 1961, 1962).

Детальный флуктуационный анализ (Gillham, Levine, 1962) с проведением четкого контроля подтвердил различие этих типов мутаций.